Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Tübingen
Vorstand: Prof. Dr. Haffner.

Weitere Untersuchungen zur Bestimmung von Atropin und ähnlich wirkenden Stoffen auf biologischem Wege

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung
der Doktorwürde der Zahnheilkunde
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität zu
Tübingen

vorgelegt von

ALBERT WEIDELI
aus Frankenthal (Pfalz)

1932

Druck: Buchdruckerei Julius Goelz in Mengen (Württemberg)

Dekan: Prof. Dr. Haffner

Berichterstatter: Privatdozent Dr. Pulewka.

Zum Druck genehmigt von der Medizinischen Fakultät Tübingen.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Weitere Untersuchungen zur Bestimmung von Atropin und ähnlich wirkenden Stoffen auf biologischem Wege.

Das Atropin, in der allgemeinen Medizin eines der am häufigsten gebrauchten Mittel, spielt auch im Arzneischatz des Zahnarztes eine Rolle. Ueberschätzung seiner Giftigkeit scheint oft der ausgiebigen Anwendung dieses Alkaloids im Wege zu sein, andererseits kann unerwartete Ueberempfindlichkeit gegen das Mittel (1) zu unliebsamen Ueberraschungen führen. Die Kenntnis des Schicksals des Atropins im Organismus ist zum Studium vieler Fragen, z. B. gerade zur Beurteilung seiner Giftigkeit von großer Bedeutung. Tierversuche geben nicht immer den gewünschten Aufschluß über die Verhältnisse am Menschen, zumal verschiedene Tierarten sich gerade gegen Atropin ganz verschieden verhalten (2,3). Zu quantitativen Untersuchungen über die Ausscheidung des Atropins im Harn des Menschen hat es lange an geeigneten Methoden gefehlt. Vor kurzem hat Ching-Whai Wang in seiner Dissertation (4) eine Uebersicht über die biologischen Methoden zur quantitativen Bestimmung von Atropin gegeben und in zahlreichen Versuchen die Vorteile des Verfahrens von Pulewka (5) bestätigt, welches die Pupille der weißen Maus als Testobjekt für den qualitativen Nachweis und die quantitative Bestimmung pupillenwirksamer Stoffe benutzt. Mit Hilfe dieses Verfahrens hat Ching-Whai Wang die Ausscheidung von Atropin im Harn von kranken Menschen, die mit Atropin behandelt worden waren, quantitativ bestimmt.

In der vorliegenden Arbeit wurden auf Anregung von Herrn Privatdozent Dr. Pulewka weitere Untersuchungen mit Hilfe der Mäusepupille als Testobjekt durchgeführt. Nach einigen weiteren methodischen Prüfungen mit Atropin wurden die Versuche auch auf die linksdrehende Komponente dieses Alkaloids, das l-Hyoscyamin ausgedehnt. Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung verschiedener Dosen von Atropin und Linkshyoscyamin wurden am Testobjekt der Mäusepupille angestellt und mit Hilfe der gewonnenen Wirkungskurven die Ausscheidung von eingenommenem Atropin und l-Hyoscyamin im Harn gesunder Versuchspersonen bestimmt.

Versuche.

Die Mäuse wurden ebenso gehalten wie in den Versuchen von Ching-Whai Wang (4) und die Versuchsanordnung war, wo nichts anderes bemerkt wird, die gleiche. Die normale Pupillenweite der

von mir benutzten Mäuse lag etwa bei denselben Werten, wie sie Pulewka (6) und Ching-Whai Wang (4) bei ihren Versuchen beobachtet haben, d. h. in der Mehrzahl der Fälle zwischen 0,2 und 0,4 mm. Die wenigen Tiere, deren Pupillen normaler Weise größer waren als 0,4 mm, wurden von den Versuchen ausgeschlossen.

Die Wirkung täglicher Atropininjektionen.

Bei der Durchführung größerer Versuchsreihen ist es zur Ersparnis von Tiermaterial wünschenswert, das einzelne Versuchstier möglichst oft zu verwenden. Vorsichtshalber wurden in den früheren Versuchen die Mäuse niemals häufiger als alle 4 Tage benutzt und trotz wiederholter Versuche an denselben Tieren eine Aenderung der Empfindlichkeit gegenüber der Pupillenwirkung des Atropins nicht gefunden. Es wurde nunmehr geprüft, ob auch bei täglicher Einspritzung bestimmter Atropindosen etwa die Wirkung unverändert bliebe. Die Versuche wurden 16 Tage lang an 4 Mäusen durchgeführt; sie erhielten täglich 0,01 oder 0,02 mg Atropinsulfat pro 20 g Maus subcutan eingespritzt. Das Ergebnis zeigt folgende Tabelle.

Tabelle 1.

Maus I					
Tag	Pupillenweite in mm			Wirkungsquotient	
	vor	nach			
		0,001 mg	0,002 mg	0,001 mg	0,002 mg
1	0,2	0,6	—	3	—
2	0,2	—	1,0	—	5
3	0,25	0,75	—	3	—
4	0,3	—	1,2	—	4
5	0,25	0,75	—	3	—
6	0,25	—	1,2	—	4,8
7	0,25	—	1,2	—	4,8
8	0,3	0,8	—	2,66	—
9	0,3	—	1,2	—	4,0
10	0,3	0,7	—	2,33	—
11	0,25	—	1,25	—	5,0
12	0,25	0,8	—	3,2	—
13	0,2	—	1,2	—	6,0
14	0,3	—	—	—	—
15	0,3	—	1,2	—	4,0
16	0,2	—	1,2	—	6,0
			Mittelwert:	2.87	4,84

Fortsetzung von Tabelle 1.

Maus II.					
Tag	Pupillenweite in mm			Wirkungsquotient	
	vor	nach			
		0,001 mg	000,2 mg	0,001 mg	0,002 mg
1	0,25	0,7	—	2,8	—
2	0,25	—	1,0	—	4,0
3	0,25	0,7	—	2,8	—
4	0,3	—	1,25	—	4,16
5	0,3	0,7	—	2,33	—
6	0,3	—	1,4	—	4,66
7	0,3	—	1,2	—	4,0
8	0,35	0,7	—	2,0	—
9	0,25	—	1,3	—	5,2
10	0,3	0,7	—	2,33	—
11	0,25	—	1,2	—	4,8
12	0,25	0,6	—	2,4	—
13	0,3	—	1,1	—	3,66
14	0,35	—	—	—	—
15	0,3	—	1,3	—	4,33
16	0,2	—	1,2	—	6,0
			Mittelwert:	2.44	4,53

Maus III.					
Tag	Pupillenweite in mm			Wirkungsquotient	
	vor	nach			
		0,001 mg	0,002 mg	0,001 mg	0,002 mg
1	0,25	0,8	—	3,2	—
2	0,25	—	1,0	—	4,0
3	0,25	0,65	—	2,6	—
4	0,25	—	1,2	—	4,8
5	0,25	0,75	—	3,0	—
6	0,25	—	1,2	—	4,8
7	0,25	—	1,2	—	4,8
8	0,25	0,8	—	3,2	—
9	0,3	—	1,4	—	4,66
10	0,25	0,65	—	2,6	—
11	0,3	—	1,15	—	3,83
12	0,3	0,8	—	2,66	—
13	0,25	—	1,2	—	4,8
14	0,3	—	—	—	—
15	0,25	—	1,25	—	5,0
16	0,25	—	1,25	—	5,0
			Mittelwert:	2,88	4,63

Fortsetzung von Tabelle 1.

Maus IV.					
Tag	Pupillenweite in mm			Wirkungsquotient	
	vor	nach			
		0,001 mg	0,002 mg	0,001 mg	0,002 mg
1	0,4	1,4	—	3,5	—
2	0,35	—	1,8	—	5,14
3	0,35	1,4	—	4,0	—
4	0,35	—	2,0	—	5,72
5	0,4	1,6	—	4,0	—
6	0,3	—	2,0	—	6,66
7	0,35	—	2,0	—	5,72
8	0,35	1,5	—	4,28	—
9	9,35	—	2,0	—	5,72
10	0,4	1,5	—	3,75	—
11	0,3	—	1,9	—	6,33
12	0,35	1,4	—	4.0	—
13	0,3	—	1,8	—	6,0
14	0,4	—	—	—	—
15	0,5	—	2,0	—	4,0
16	0,3	—	1,9	—	6,33
			Mittelwert:	3,92	5,73

Wie man aus der Tabelle ersieht, bleibt die Wirkung bei täglicher Einspritzung dieser kleinen Mengen innerhalb der 16 Tage grundsätzlich unverändert, d. h. die Werte der Wirkungsquotienten verändern sich nicht nach einer bestimmten Richtung hin. Die Streuung dieser Werte ist jedoch etwas größer als es in den Versuchen von Dr. Pulewka der Fall war, welcher Injektionen am gleichen Tier in größeren Zeitabständen (mindestens 4 Tage) wiederholte. Die größere Abweichung einzelner Wirkungsquotienten bei meinen Versuchen beruhen hauptsächlich auf Schwankungen der vor der Injektion gemessenen Normalwerte, die häufig viel größer sind als in den früheren Versuchen. Der Unterschied dürfte durch die bei täglicher Einspritzung auftretende Hautschädigung und stärkere Erregung der Tiere zu erklären sein. Man kann den Fehler, der durch Schwankungen der vor der Injektion gemessenen normalen Pupillenweiten entsteht, vermeiden, wenn man den Durchschnitt aller Normalwerte der Berechnung des Wirkungsquotienten zu Grunde legt.

Wir sind in den folgenden Versuchen dabei geblieben, jedes Tier nicht häufiger als in Abständen von mindestens 4 Tagen zu benutzen.

Die Wirkung intraperitonealer Atropininjektionen.

Es war denkbar, daß die Streuung der Wirkung bestimmter Atropindosen bei intraperitonealer Einverleibung infolge gleichmäßigerer Resorption geringer ist, als bei subcutaner Einspritzung. In Versuchen von Dr. Pulewka und von Zahnarzt Widmann war das nicht der Fall. Bei meinen eigenen Versuchen, die in Tabelle 2 dargestellt werden, war die Streuung bei intraperitonealer Anwendung sogar ganz wesentlich größer als bei subcutaner.

Tabelle 2.

Je 20 g Maus erhielten 0,001 mg Atropinum sulfuricum intraperitoneal.			
Nr.	Wirkungsquotient	Nr.	Wirkungsquotient
1	2,20	12	2,40
2	2,75	13	1,75
3	2,00	14	2,40
4	2,60	15	2,80
5	3,66	16	2,16
6	2,80	17	1,66
7	1,40	18	1,60
8	1,77	19	2,00
9	1,25	20	2,00
10	1,25	21	2,00
11	4,00	22	3,00
		Mittelwert:	2,25

Es war zu prüfen, ob die intraperitoneal größere Streuung etwa durch Verletzung des Darmes oder der Leber bedingt sein kann. Daher habe ich eine Reihe von Mäusen nach Einstich der Kanüle in den Bauchraum, der in gleicher Weise wie bei den Injektionsversuchen ausgeführt wurde, mit Chloroform getötet und durch Sektion den Sitz der Kanüle kontrolliert. Bei diesen Versuchen zeigte es sich, daß eine Verletzung der Leber und des Darmes durch die Injektionskanüle bei sorgfältigem Arbeiten nie eingetreten war. Es ist daher nicht wahrscheinlich, daß die große Streuung der Pupillenwirkung des Atropins bei intraperitonealer Einspritzung auf technischen Mängeln der Injektion beruht, und es folgt daraus, daß das subcutane Verfahren für unsere Zwecke dem intraperitonealen überlegen ist.

In seiner obengenannten Dissertation hatte Ching-Whai Wang (4) mit Hilfe des Verfahrens an der Mäusepupille die Ausscheidung des Atropins im Harn von drei atropinbehandelten Kranken längere Zeit

fortlaufend quantitativ bestimmt. Der Atropingehalt des Harns wurde durch Vergleich seiner pupillenerweiternden Wirkung bei subcutaner Injektion mit der Wirkung subcutan injizierter Atropinsulfatlösungen von bekanntem Gehalt ermittelt, nachdem zuvor festgestellt worden war, daß Atropin im Harn gelöst ebenso wirkt wie Atropin in physiologischer Kochsalzlösung. Da diese Versuche an Kranken mit postencephalitischen Störungen ausgeführt worden waren, so war es von Wichtigkeit, zu prüfen, ob gesunde Versuchspersonen sich hinsichtlich der Ausscheidung des Alkaloides genau so verhalten wie die untersuchten Kranken. Außerdem sollten die Ausscheidungsversuche an gesunden Personen auch auf l-Hyoscyamin ausgedehnt werden.

Die Wirkung verschiedener Atropin- und l-Hyoscyamindosen nach subcutaner Injektion.

Die für diese Versuche bestimmten Mäuse mußten durch Ermittlung der Wirkung bekannter subcutan injizierter Atropinsulfatdosen geeicht werden. In gleicher Weise wurde außerdem die Wirkung verschiedener bekannter l-Hyoscyamindosen (l-Hyoscyaminum hydrobromicum) bei subcutaner Injektion geprüft. Das Ergebnis der Atropinversuchsreihen wird in den folgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle 3.

Atropinum sulfuricum.		
Dosis in mg pro 20 g Maus	Zahl der Versuche	Wirkungsquotient Mittelwert
$8 \cdot 10^{-4}$	28	2,7
9	6	2,6
10	62	3,2
12	6	3,8
12,5	12	3,3
15	28	4,1
20	56	4,7
25	14	5,5
30	20	5,8
40	6	6,0

Die von mir erhaltenen Werte kommen denen von Wang (4) sehr nahe, ohne sich jedoch vollständig mit ihnen zu decken. Für die Erklärung der Abweichungen kommt neben der Möglichkeit einer Verschiedenheit in der Empfindlichkeit der von Wang und

von mir benutzten Versuchstiere vor allem der persönliche Fehler der verschiedenen Untersucher bei den Messungen in Frage. Ein wesentlicher Unterschied in der Empfindlichkeit der von Wang und von mir benutzten Mäuse war nach den Versuchen von Dr. Pulewka nicht vorhanden, doch ergaben vergleichende Pupillenmessungen der drei Untersucher in der Regel geringe für jeden Beobachter charakteristische Abweichungen.

In der folgenden Tabelle 4 ist die Wirkung verschiedener l-Hyoscyamindosen dargestellt.

Tabelle 4.

l-Hyoscyaminum hydrobromicum.		
Dosis in mg pro 20 g Maus	Zahl der Versuche	Wirkungsquotient Mittelwert
$4 \cdot 10^{-4}$	27	2,5
4,5	4	3,05
5	10	3,2
6	20	3,8
7,5	4	4,6
8	12	4,2
9	8	4,7
10	38	5,2
12	6	6,0
12,5	4	5,4
15	12	6,3

Beim Vergleich dieser und der vorigen Tabelle bestätigt sich die bekannte Tatsache, daß l-Hyoscyamin auf die parasympatischen Nervenendigungen etwa doppelt so stark wirkt wie Atropin. [Cushny (7)]

Die Ausscheidung von eingenommenem Atropin im Harn gesunder Menschen.

Die Versuche wurden an 2 Personen ausgeführt: P. 66 kg, W. 67 kg. Die einzelnen Atropingaben wurden jeweils in 100 ccm Wasser genommen. Die Einzelheiten dieser Versuche werden in folgenden Tabellen wiedergegeben.

Es sei bemerkt, daß die meisten Bestimmungen von mir mit Lösungen ausgeführt wurden, deren Atropin- bezw. l-Hyoscyamingehalt mir erst nach den Versuchen bekanntgegeben wurde.

Tabelle 5.

Atropinversuch.				Versuchsperson P.		
Tag	Zeit	Stunden nach Atropin-gabe	Eingenommene Atropin-dosis 1) mg	Harn-menge ccm	Ausgeschiedene Atropin-menge mg	% der eingenommenen Dosis
31. 3. 31	9^{30}	—	2	—	—	—
	13^{45}	—	2	—	—	—
	20^{00}	—	2	—	—	—
1. 4. 31	9^{30}	$13^1/_2$	—	780	1,91	31,83
	15^{00}	19	—	260	0,14	2,33
		zusammen:	6	1040	2,05	34,16

1) Die Mengenangaben für Atropin beziehen sich auf Atropinsulfat.

Wie die Tabelle zeigt, war 24 Stunden nach der ersten, $13^1/_2$ Stunden nach der letzten Atropingabe die Ausscheidung nahezu beendet. Darnach wurden nur noch Spuren des Alkaloids mit dem Harn entfernt. Insgesamt wurden rund 34 % der eingenommenen Menge ausgeschieden.

Tabelle 6.

Atropinversuch.				Versuchsperson P.		
Tag	Zeit	Stunden nach Atropin-gabe	Eingenommene Atropin-dosis mg	Harn-menge ccm	Ausgeschiedene Atropin-menge mg	% der eingenommenen Dosis
9. 4. 31	12^{30}	—	5	—	—	—
	15^{30}	3	—	210	0,77	15,4
	18^{30}	6	—	200	0,57	11,3
	22^{30}	10	—	130	0,19	3,8
10. 4. 31	1^{30}	13	—	90	0,045	0,9
	7^{00}	$18^1/_2$	—	(180)	Spur	—
		zusammen:	5	810	1,575	31,4

Wie dieser Versuch zeigt, wurde etwa $^1/_3$ der eingenommenen Atropindosis ausgeschieden, die Ausscheidung war in etwa 10 Stunden nahezu, in etwa 13 Stunden so gut wie vollständig beendet.

Die Versuchsperson P. reagierte in beiden Versuchen auf Atropin mit Pupillenerweiterung, Trockenheit des Mundes, des Rachens und des Schlundes, sowie Akkommodationsstörungen. Die Erscheinungen waren im zweiten Versuch, in dem 5 mg auf einmal genommen wurden, stärker als im ersten Versuch; doch war auch hier die Akkommodationsstörung nicht sehr stark: Zeitungsdruck konnte mit einiger Mühe noch gelesen werden. Am folgenden Morgen waren alle Erscheinungen geschwunden.

Tabelle 7.

Atropinversuch.				Versuchsperson W.		
Tag	Zeit	Stunden nach Atropingabe	Eingenommene Atropindosis mg	Harnmenge ccm	Ausgeschiedene Atropinmenge mg	% der eingenommenen Dosis
12. 4. 31.	7^{30}	—	1	—	—	—
	8^{30}	—	1	—	—	—
	11^{45}	—	2	—	—	—
	18^{45}	—	2	—	—	—
13. 4. 31.	7^{30}	$12\,3/4$	—	1380	1,49	24,8
	15^{00}	$20\,1/4$	—	(310)	—	—
zusammen:			6	1380	1,49	24,8

Rund 25 % Atropin wurden, wie die Tabelle zeigt, im Harn ausgeschieden; die Ausscheidung war nach etwa 13 Stunden beendet.

Versuchsperson W. reagierte auf 6 mg Atropinsulfat in nahezu gleicher Weise wie P. bei der gleichen Atropingabe, nur waren die Akkommodationsstörungen etwas stärker, die auch am folgenden Morgen gerade noch bemerkbar waren, um im Laufe des Vormittages vollständig zu verschwinden.

Die Ausscheidung von eingenommenem l-Hyoscyamin im Harn gesunder Menschen.

In den folgenden Versuchen wurde die Ausscheidung von eingenommenem l-Hyoscyaminum hydrobromicum in gleicher Weise untersucht wie in den vorangehenden Atropinversuchen.

Tabelle 8.

l-Hyoscyaminversuch.				Versuchsperson P.		
Tag	Zeit	Stunden nach l-Hyoscyamingabe	Eingenommene l-Hyoscyaminmenge mg	Harnmenge ccm	Ausgeschiedene l-Hyoscyaminmenge mg	% der eingenommenen Dosis
14. 4. 31	17^{30}	—	3	—	—	—
	22^{30}	5	—	185	0,426	14,18
15. 4. 31	7^{00}	$13^1/_2$	—	350	0,24	8
	10^{00}	$16^1/_2$	—	130	0,06	2
zusammen:			3	665	0,726	24,18

Ausgeschieden wurden in diesem Versuch 24,2 %. Die Ausscheidung war in $16^1/_2$ Stunden nach der Einnahme annähernd beendet.

Tabelle 9.

l-Hyoscyaminversuch.				Versuchsperson W.		
Tag	Zeit	Stunden nach l-Hyoscyamingabe	Eingenommene l-Hyoscyaminmenge mg	Harnmenge ccm	Ausgeschiedene l-Hyoscyaminmenge mg	% der eingenommenen Dosis
16. 4. 31	12^{00}	—	3	—	—	—
	18^{00}	6	—	1030	0,46	15,5
17. 5. 31	24^{00}	12	—	500	0,19	6,3
	11^{00}	23	—	(280)	—	—
zusammen:			3	1530	0,65	21,8

Der Dosierung entsprechend war die Wirkung der l-Hyoscyamingabe noch etwas stärker als die der vorangehenden Atropingaben. Zu den dort geschilderten Erscheinungen kamen hier noch eine geringe Beschleunigung und Unregelmäßigkeit des Pulses hinzu. In allen Versuchen reagierten die beiden Versuchspersonen auf gleiche Dosen auch nahezu gleich stark. Nur die Akkommodationsstörungen waren bei W. stärker und dauerten länger als bei P.

Die Versuche an Gesunden mit Atropin ergaben, daß von der eingenommenen Dosis ein Viertel bis ein Drittel ausgeschieden wurde. Die Ausscheidung bei gesunden Personen war die gleiche wie bei

den von Ching-Whai Wang untersuchten Kranken mit postencephalitischen Störungen. Ein Unterschied zwischen Gesunden und Kranken war in diesen Versuchen demnach nicht festzustellen.

In dem l-Hyoscyaminversuch wurde bei Versuchsperson P. ein Viertel der eingenommenen Dosis wiedergefunden. Bei W. war die Ausscheidung noch ein wenig geringer. Die Ausscheidung von Atropin und l-Hyoscyamin war in diesen Versuchen innerhalb 13 bis 15 Stunden nach der Einnahme beendet.

Zusammenfassung.

Weitere Versuche, in denen die Mäusepupille als pharmakologisches Reagenz geprüft und verwendet wurde, ergaben folgendes: Die Pupillenwirkung täglich wiederholter subcutaner kleiner Atropingaben wurde an der Maus 16 Tage lang grundsätzlich gleich stark gefunden, doch ist die Streuung der Werte für die Wirkung größer, als bei Mäusen, die in Zeitabständen von mehreren Tagen mit Atropineinspritzungen behandelt wurden. Die Streuung der Wirkung bestimmter Atropingaben ist bei intraperitonealer Injektion viel größer als bei subcutaner. l-Hyoscyamin wirkt auf die Mäusepupille ungefähr doppelt so stark wie Atropin.

Zwei gesunde Versuchspersonen schieden nach Einnahme von Atropin etwa ein Drittel bis ein Viertel der eingenommenen Dosis aus, von eingenommenem l-Hyoscyamin wurde knapp ein Viertel im Harne wiedergefunden.

Literaturverzeichnis.

1. **Klemperer und Rost,** Handbuch der allgem. und der speziellen Arzneiverordnungslehre. Berlin 1929 S. 217.
2. **Fleischmann,** Archiv für experimentelle Pathol. Bd. 62 S. 518. 1910.
3. **Metzner,** Archiv für experimentelle Pathol. Bd. 68 S. 110. 1912.
4. **Ching-Whai Wang,** Dissertation. Tübingen 1931.
5. **Pulewka,** Archiv für experimentelle Pathol. Bd. 157 S. 129. 1930. (Verhandlung der Deutschen pharmakol. Ges. X. 1930).
6. **Pulewka,** Archiv für experimentelle Pathol. Bd. 123 S. 264. 1927.
7. **Cushny** Journ. of Physiol. Bd. 30 S. 176. 1904.

Lebenslauf.

Geboren wurde ich, Albert Weideli, am 10. März 1909 in Frankenthal (Pfalz), als Sohn des Kaufmanns Emil Weideli.

Ich besuchte vom Jahre 1918 bis 1927 das hum. Gymnasium in Sigmaringen und erhielt dort am 18. 3. 1927 das Reifezeugnis.

Das Studium der Zahnheilkunde begann ich im Sommersemester 1927 an der Universität München und bestand dort das Physikum am 27. Mai 1929. Im Wintersemester 1929/30 besuchte ich die Universität Frankfurt a. M. Das Staatsexamen legte ich im Wintersemester 1930/31 in Tübingen ab. Die Approbation als Zahnarzt erhielt ich am 30. Mai 1931.